

加熱デンプンの添加物による影響について (第3報)

— 形態学的観察 —

請川琴子・奥田弘枝

On the Influence of the Annexes on Heated Starch (Part 3)

—On Morphological Observation—

Kotoko UKEGAWA and Hiroe OKUDA

Abstract

Part I and Part 2 are the results of the morphological observation on the influence which all sorts of seasonings exercise upon the process of making paste from starch granules. According to the results, the influences by the identical seasoning differ a little with the kinds of starch, but, in the case of adding sugar, evidently it impedes the swelling of the starch granules more effectively than in the nonadditive product, and it seems that it exercises a greater influence upon the degree of making paste.

In examining the influence which sugar and the other seasonings added in the wheat flour dough-cooking exercise upon the products, it seems that the influence upon the degree of making paste can be rather definitely shown from the observation through a fluorescence microscope besides the usual standard optical microscope. This experiment is a fundamental one attempted from the point of view above mentioned. The variations of the internal structure by making paste from starch granules could be found from rise and fall of the double refraction through a polarizing microscope.

In this experiment, wheat flour is "Heart" (made at Nippon Milling Co., Ltd.) and sugar is granulated one. An optional-sized dough was made by adding 55 c.c. of distilled water to 100 g. of wheat flour and kneading it 100 times by hand.

The quantity of distilled water of the dough to which sugar was added was computed on condition that the rate of increase of the gross capacity of the sugared water was 60% of the weight of sugar.

The dough steamed at 100°C for a limited hour, was fixed and dehydrated, and then it was made up into several slices embedded in paraffin and frozen sections.

The samples for the observation through a standard optical microscope were dyed trebly with light green, gentian violet, and iodine potassium iodide solution.

The difference in the keating hours, and the difference in the degree of making paste

from starch granules by the quantity of the added sugar, could be rather definitely shown from the observation through a fluorescence microscope besides a standard optical microscope.

I 結 言

第1報¹⁾、第2報²⁾では各種の調味料がデンプン粒子の糊化過程に及ぼす影響について形態学的面からの検索を行なった。その結果、同一物質による影響がデンプンの種類によって多少異なる点はみられるが、中でも砂糖が各種デンプン粒の膨潤を阻害していることは明らかであり、糊化度への影響の大きいことがわかった。そこで今回は小麦粉を用いたドウ調理において、添加された砂糖が製品に及ぼす影響を検討したいと考えた。蒸しドウ中のデンプンの糊化の度合と光学顕微鏡による所見との関連をより明らかにする方法として、従来のスタンダード光学顕微鏡 (optical microscope) に併せて蛍光顕微鏡 (fluorescence microscope) を用いて観察すると共に、デンプン粒の糊化による内部構造の変化は偏光顕微鏡 (polarizing microscope) による複屈折性の偏光十字の消長により判定することにした。これ等の所見から添加物のデンプン糊化度への影響もある程度明らかに出来るものと考え、次のような基礎的な実験を行なった。

II 実 験

1. 試 料

小麦 (*vulgare*) 粒：軟質小麦粒、オーストラリア産

小麦粉：薄力粉“ハート”日本製粉株式会社 (湿秣量22.5%)

砂糖：精製上白糖

2. 実 験 方 法

(1) ドウ (dough) の作製

調理において最も扱いやすいかたさのドウとして、直径 20cm のボールに 100g の小麦粉と、20°C に調整した蒸留水 55cc を加えて、100 回手ごねにしたものを基準とした。これを 80g 用いて 4cm の立方体に成形した。

砂糖を添加したドウの場合、添加量は第1報の結果から、小麦粉の重量の10%と30%の2種とした。

砂糖添加の方法は砂糖をこね水に溶解して加え、加水量は砂糖を水に溶解した際の容量増加を砂糖重量の60%として算出した。

加熱方法はあらかじめ 100°C に熱しておいた蒸し器に入れ、蒸し加熱を行なった。

蒸し時間は予備実験にもとづき加熱時間の違いによるデンプンの糊化状態の変化を知るた

めに20分加熱と40分加熱の2種とした。加熱後30分間室温 ($20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) に放冷した。

(2) 顕微鏡標本の作製

スタンダード光学顕微鏡標本の作製は蒸しドウの中央部及び外側部を5mmの立方体に切り取り、バッファード・ホルマリン (buffered formalin) で固定し、アルコール脱水の後、常法によりパラフィン包埋して 10μ の切片とした。デンプンはライトグリーン、ゲンチアナ紫、ヨード・ヨドカリ液で三重染色を行ない、ツェダックス (Caedax) で封入した。

蛍光顕微鏡標本の作製は小麦粒の場合、 20°C の蒸溜水に10時間浸漬して、3mmの厚さに切断した縦断部を 10μ の凍結切片とし、これをスライドガラスに直接伸展して $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ の室温で乾燥させた。

生ドウと蒸しドウは試料の中央部および外側部を5mmの立方体に切り取り、バッファード・ホルマリンで固定し、 10μ の凍結切片とした。これを蒸溜水で軽く水洗して小麦粒と同様な方法で標本の作製を行なった。

蛍光顕微鏡は NIKON F.L. 型、光源超光圧水銀燈 S.H.L. 200、光源フィルター、U.V.O.、接眼フィルター なし を使用。

偏光顕微鏡標本の作製は小麦粒、生ドウ、蒸しドウともに蛍光顕微鏡標本の作製方法と同様で、薄切片 (10μ) をスライドガラスに直接伸展して $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ の室温で乾燥させ、グリセリンで封入した。

III 実験結果及び考察

1. スタンダード光学顕微鏡による観察

Fig. 1 は添加物なしで40分蒸したドウの外側部である。デンプンは紫褐色に染まり、グルテン類は青緑色に染まった。デンプン粒は十分に膨潤して、粘着性を増している。グルテンは網状構造を形成してデンプン粒を包含し、ドウの組織を確立している。

Fig. 2 は同一試料の拡大図である。倍率は $\times 400$ 。

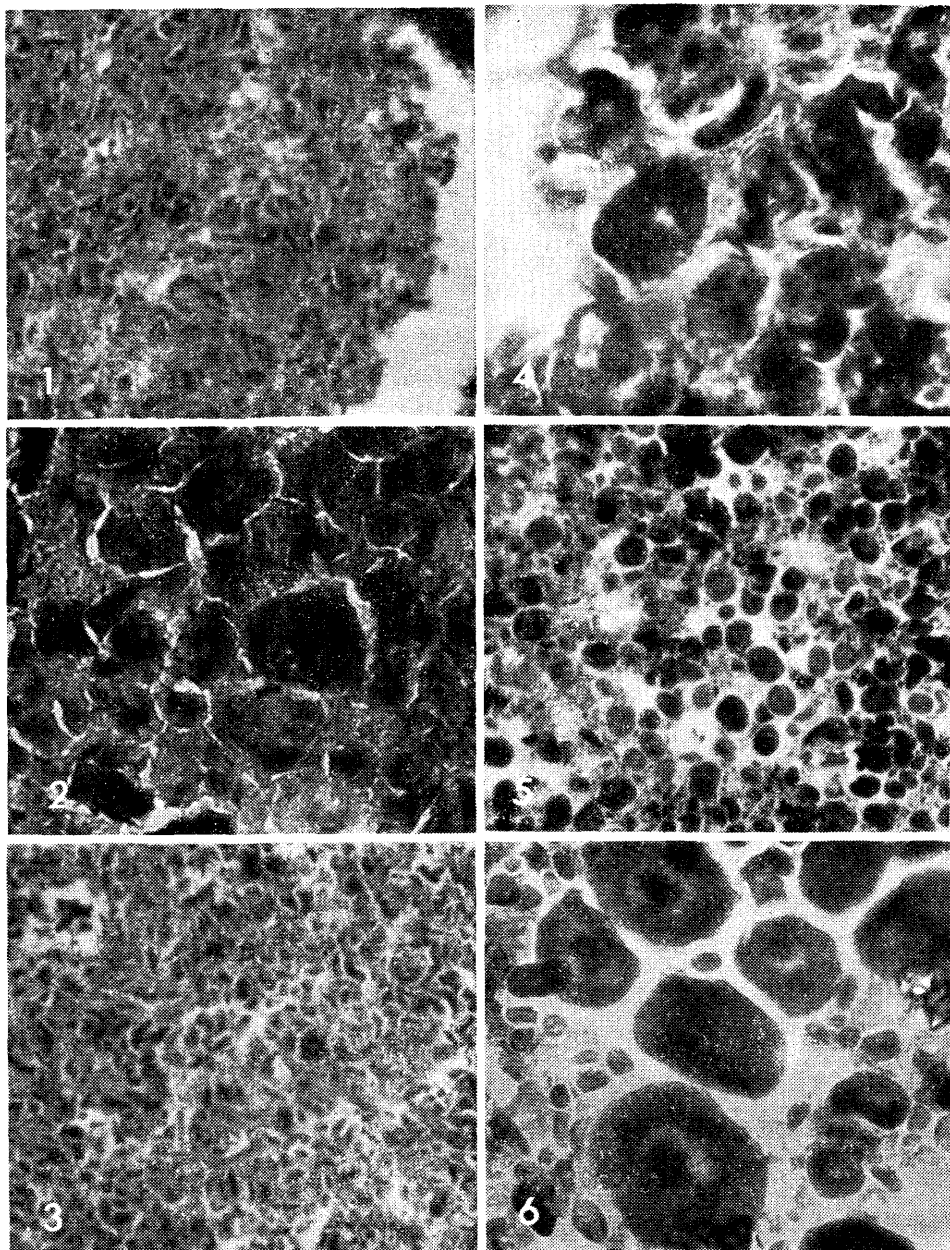
Fig. 3 は添加物なしで40分蒸したドウの中央部である。外側部と同様にデンプン粒は十分に膨潤し、グルテンとの粘着性が強いようである。

Fig. 4 は同一試料の拡大図でデンプン粒の変化が著しい。倍率は $\times 400$ 。

Fig. 5 は10%の砂糖を添加して40分蒸したドウの中央部を示す。無添加に比し、デンプン粒の膨潤が悪く、グルテンの網状構造の形成も阻害されている。

Fig. 6 は同一試料の拡大図で倍率は $\times 400$ 。デンプン粒の中には中空のリング状になったものが観察される。著者らの過去の実験における観察によると、砂糖水を添加して加熱した他の数種類のデンプン粒にも同様な現象が見られた。これは砂糖添加によるデンプン粒内部

図版 1



の脱水現象と、内部構造に関係することは明らかである。二国、Whistler³⁾らはデンプン粒を唾液アミラーゼによって消化したところ、ほとんどすべてのデンプン粒が中空になっているのを認めているが、砂糖を添加した場合の現象との関連性についてはさらに研究を待たねばならない。

Fig. 7 は10%の砂糖を添加して40分蒸したドウの外側部である。中央部と同様にデンプン粒の膨潤度は悪くグルテンの網状構造形成も阻害されている。

更に30%の砂糖を添加して40分蒸したドウの中央部 (Fig. 8) は10%の砂糖を添加したドウ以上にデンプン粒の膨潤は阻害されている。その原因として砂糖を添加したドウの加水量は砂糖が水に溶解した際の容量増加分をさし引いてあるため、デンプン粒の膨潤のために必要な水分に不足をきたしていると考えられるが、なおそのほかに第1報、第2報の観察結果からみて十分な水分量を与えても砂糖がデンプン粒に自由な水を供給することを妨げて、膨潤に抑制作用が現れているものと考えられる。また、グルテンの網状構造の形成も悪く、デンプン粒を包含することが出来ない。こうした現象は水に対する砂糖とグルテンの競合性から砂糖水はグルテン形成を遅らせ、また、小麦タンパク質を一部溶解させる作用があるという田村⁴⁾、Baxter⁵⁾らの見解と一致している。

Fig. 9 は同一試料の拡大図で倍率は×400。10%砂糖添加の蒸しドウと同様にデンプン粒は多くは原形をとどめており、リング状をしているものも観察される。

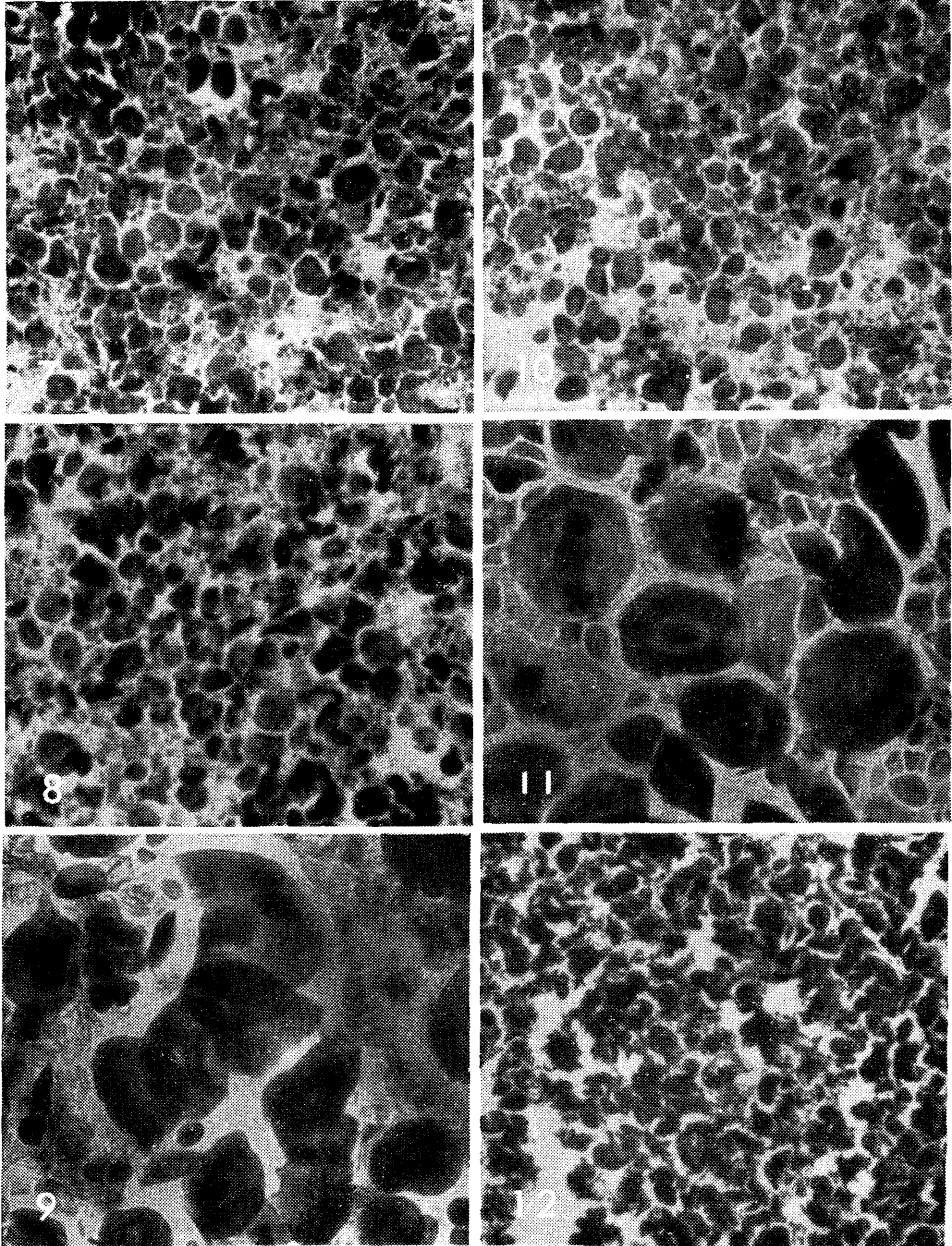
Fig. 10 は30%の砂糖を添加して40分蒸したドウの外側部である。10%の砂糖を添加したものと同様にデンプン粒の膨潤度に抑制作用がみられ、また、グルテンの網状構造も阻害され、グルテン量もいく分少ないようにみうけられる。

同一試料の拡大図は Fig. 11 である。倍率は×400。デンプン粒の形、膨潤度ともに中央部に類似している。外側部は蒸し加熱中に蒸気に接しているため、ある程度の水分吸収は可能と思われるが形態上の違いはほとんど見られない。

次に加熱時間の少ない蒸しドウについて観察したものが Fig. 12 である。これは砂糖無添加で20分蒸したものの中央部である。デンプン粒の膨潤度は40分蒸した無添加のドウ (Fig. 3) に比べて悪くむしろ砂糖添加のものに近い。しかし、グルテン形成は進みグルテ

図版 1	Fig. 1	無添加	40分蒸し	外側部	スタンダード光学顕微鏡像	×100
	Fig. 2	"	"	"	"	×400
	Fig. 3	"	"	中央部	"	×100
	Fig. 4	"	"	"	"	×400
	Fig. 5	10%砂糖添加	"	"	"	×100
	Fig. 6	"	"	"	"	×400

図版 2



ン量も多い。

同一試料の外側部 (Fig. 13) のデンプン粒は無添加40分蒸しのドウ (Fig. 1) に近い膨潤度を示し、変化が著しく10%、30%砂糖添加の蒸しドウのデンプン粒とは明らかな違いが見られる。グルテン形成も進んでデンプン粒を包含している。したがって、砂糖10%~30%添加のドウのデンプン膨潤度は無添加で20分加熱のドウ中央部の状態に近いように思われる。

以上の形態学的観察から砂糖の添加はドウのデンプンの糊化に明らかに何らかの影響を及ぼしていると考えられる。これ等の糊化度の相違を形態学的面から判別する方法として蛍光顕微鏡による蛍光法を用いて試料の一次蛍光を観察した。その結果を次に報告する。

2. 蛍光顕微鏡による観察

Fig. 14 は前述の方法で調整した生ドウの蛍光顕微鏡像である。倍率は×100。

U. V. 励起により強い青白色の一次蛍光を発している。図では白く見える。ドウ中により強い蛍光を発する物質、図ではより白く見える物が混入しているが、小麦粒の殻が混じっているものと考えられる。そこで確認のために小麦粒の縦断面を観察した図が Fig. 15 である。表皮、果皮、糊粉層、胚乳部ともに青白色の一次蛍光を発する。表皮は製粉の段階で除去されるが、果皮、糊粉層、胚乳部は粉碎され、その一部が小麦粉の中に混入しているのが確認された。

胚乳部には $50\sim 100\mu^2$ くらいの大きさの胚乳細胞⁶⁾ が重なっており、その中にタンパク質に包まれた20個くらいのデンプン粒が存在していると云われる。

Fig. 16 はこのデンプン粒をとり出した図で倍率は×400。デンプン粒の大きさは $15\sim 25\mu$ でレンズ状の円形、または楕円形をしており U. V. による淡い一次蛍光を発している。

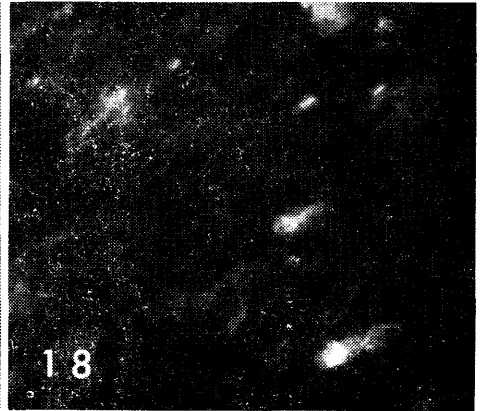
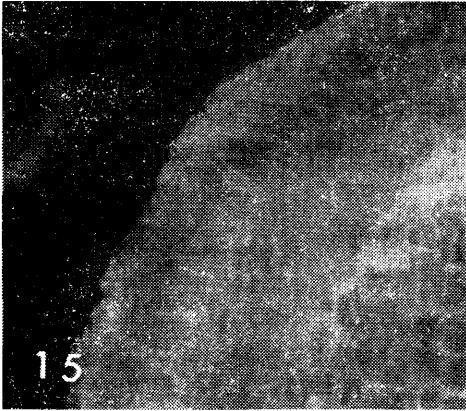
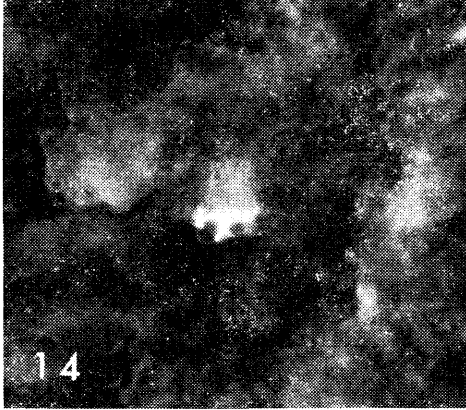
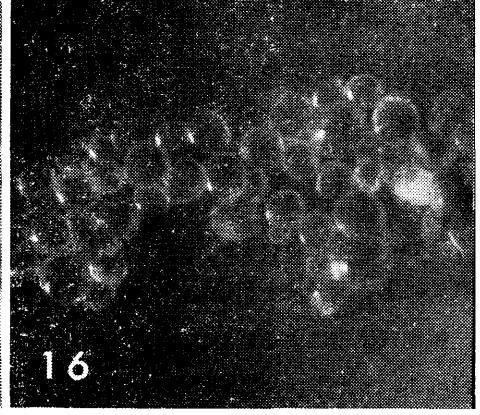
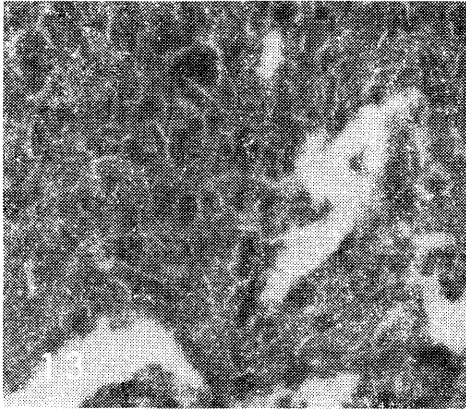
Fig. 17 は無添加の40分蒸したドウの中央部である。混入した殻のかけらが青白色、または黄色をしており、図では白く見えている。蛍光はほとんど消失している。

Fig. 18 は同一試料の外側部であり、蛍光がうすくなっているのはデンプンの糊化度の高いことを示すものであろう。

Fig. 19 は10%の砂糖を添加して40分蒸したドウの中央部である。蛍光のあらわれかたは無添加のドウとあまり変わらない。

図版 2	Fig. 7	10%砂糖添加	40分蒸し	外側部	スタンダード光学顕微鏡像	×100
	Fig. 8	30%砂糖添加	"	中央部	"	×100
	Fig. 9	"	"	"	"	×400
	Fig. 10	"	"	外側部	"	×100
	Fig. 11	"	"	"	"	×400
	Fig. 12	無添加	20分蒸し	中央部	"	×100

図版 3



外側部 (Fig. 20) もうすい蛍光を発しているが大差は認められない。すなわち10%程度の砂糖添加による糊化度の違いはこの所見ではあまり明らかでない。

Fig. 21 は30%の砂糖を添加して40分蒸したドウの中央部である。無添加の蒸しドウや10%の砂糖を添加して蒸したドウに比して蛍光度が強い、しかし、生ドウの蛍光度に比べると鮮明さがない。

Fig. 22 は同一試料の外側部である。中央部と同じような蛍光が見られる。

Fig. 23 は無添加で20分蒸したドウの中央部である。無添加で40分蒸しの中央部 (Fig. 17) に比べると蛍光が強く現れている。しかし、生のドウよりも蛍光度は弱く、砂糖30%添加の40分蒸しのドウによく似た蛍光度を示している。

生のデンプンは青白色の一次蛍光を発現するが、加熱した試料は小麦粒、生ドウに見られた蛍光の明瞭さはない。無添加で加熱時間がながく糊化が進んでいると考えられる試料の蛍光は消失しており、砂糖添加量の多い試料の蛍光は比較的是っきりと現れている。したがって、糊化の度合と蛍光度には密接な関係があると考えられる。

以上の結果から蛍光法はデンプンの糊化度の違いを知る上で有効であると云えよう。しかし、両者の関連性についてはまだ未開拓の分野が多く、現時点では生のデンプン粒と十分に糊化したデンプン、または糊化の不十分なデンプン間の構造上の違いにより蛍光度に強弱、明瞭、不明瞭の差が現れたものとしか云えない。

次に偏光顕微鏡を用いてデンプン粒の糊化による内部構造の変化を観察した。デンプンの糊化状態は複屈折性の偏光十字の消長で、ある程度判定出来ることは周知のことであるがここでは前述の結果を裏づける目的で用いた。

3. 偏光顕微鏡による観察

Fig. 24 は小麦粒の縦断面である。倍率は×100。

直交の位置にあるニコル (nicol) を通してデンプン粒全体は明るく見える核 (nucleus) のところで交叉する十字形の黒線が見える。図では表皮、果皮、糊粉層、胚乳部で多くのデンプン粒が重なりあっている状態である。

したがってデンプン粒は針状結晶の放射状集合体である球石 (spherulite) と同じような球晶 (spherocrystal) の一種である⁷⁾と云われている。

図版 3	Fig. 13	無添加	20分蒸し	外側部	スタンダード光学顕微鏡像	×100
	Fig. 14	生ドウ			蛍光顕微鏡像	×100
	Fig. 15	小麦粒	(生)	縦断面	〃	×100
	Fig. 16	デンプン粒	(生)		〃	×400
	Fig. 17	無添加	40分蒸し	中央部	〃	×100
	Fig. 18	〃	〃	外側部	〃	×100

図版 4

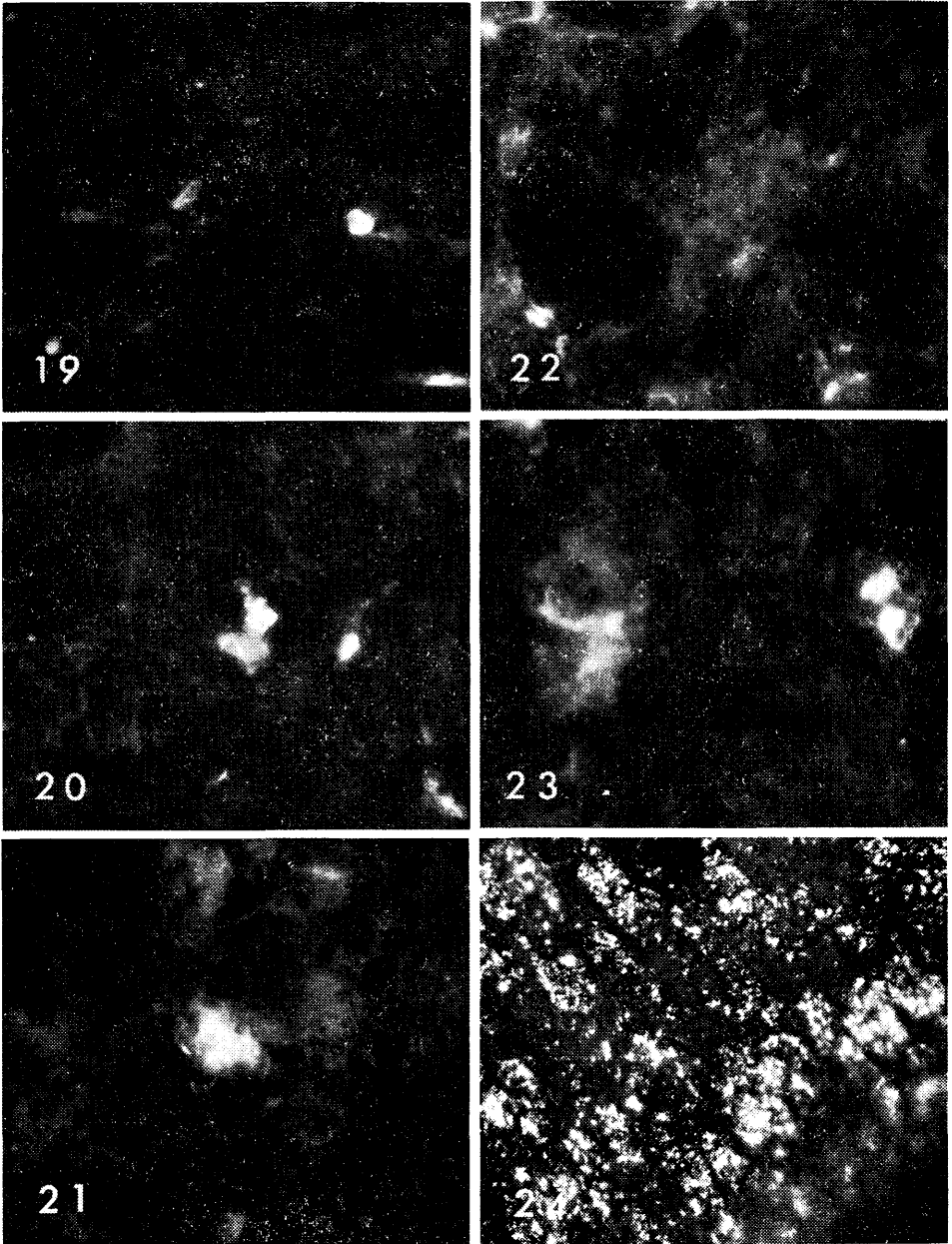


Fig. 25 は胚乳部を示す。偏光十字と明るい部分の黒白のコントラストが明瞭で、デンプンと他の物質が規則正しい模様を現わしている。

Fig. 26 は生ドウである。未糊化のデンプンの状態を示している。

Fig. 27 は無添加で40分蒸したドウの中央部である。生ドウに比して偏光十字はうすくなっている、デンプンの結晶構造は崩れて糊化した状態と云えようか。

Fig. 28 は同一試料の外側部である。偏光十字はさらにうすくなっており、中央部より糊化がより進行していると考えられる。

Fig. 29 は無添加の20分蒸しドウの中央部である。糊化が不十分であるため、白い部分が見える。

Fig. 30 は30%砂糖を添加して40分蒸したドウの中央部である。図のように白い部分がかかり残っており、糊化が不十分な状態が観察される。

以上の結果からデンプンの糊化度の違いによる蛍光顕微鏡の一次蛍光の発現の程度と偏光顕微鏡の偏光十字の消長との間には関連性があることが裏づけられた。

VI 要 約

1、小麦粒および小麦デンプン粒は U. V. 励起により青白色の一次蛍光を発する。生ドウもこれ等に次ぐ青白色の蛍光を発する。生ドウ中に、より強い青白色の蛍光、または黄色をした物質が見えるのは製粉時に粉碎された果皮、糊粉層、胚乳部等の殻の一部であることが確認された。

これらの生デンプンは偏光顕微鏡による観察では直交の位置にあるニコルを通して明瞭な偏光十字が見える。

2、無添加で40分蒸したドウの中央部、外側部ともに蛍光は消失している。特に外側部は全く蛍光は見られない。

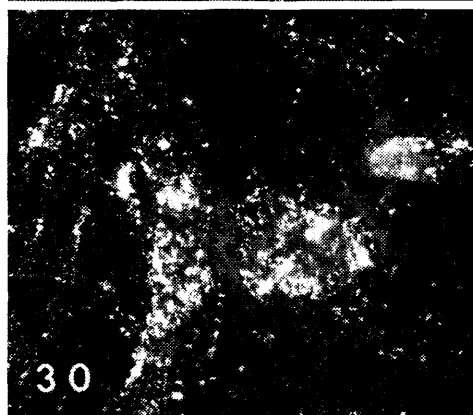
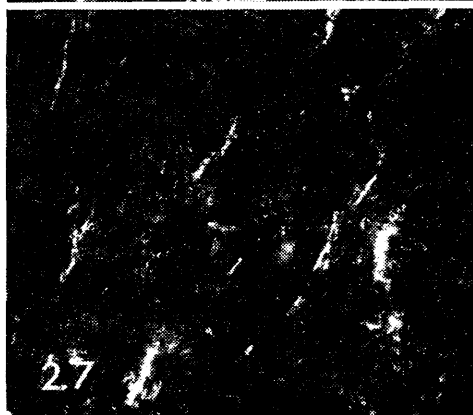
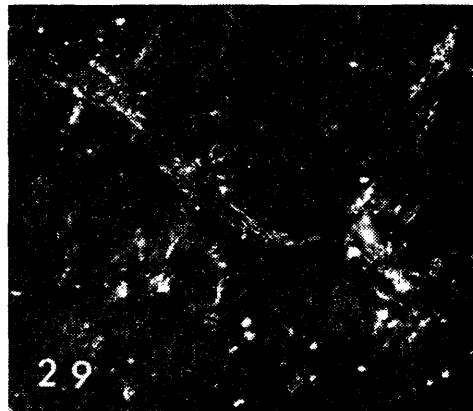
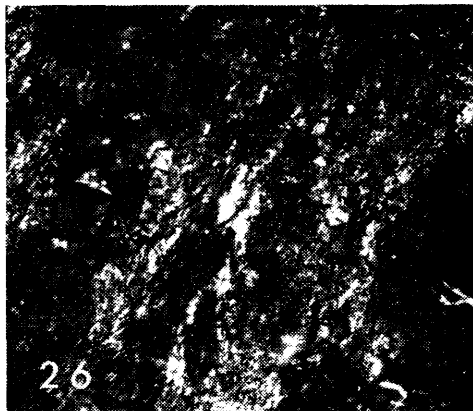
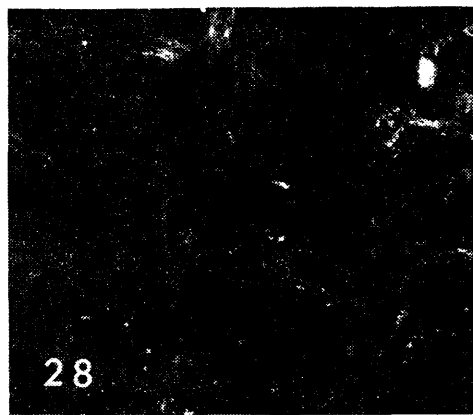
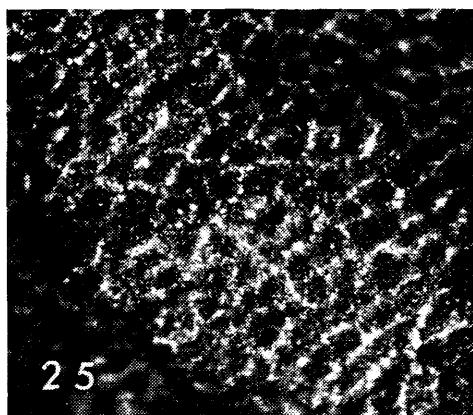
同一試料のスタンダード光学顕微鏡による観察ではデンプン粒は中央部、外側部ともに十分に膨潤し、粘着性を増している状態である。

偏光顕微鏡による観察では中央部、外側部ともに偏光十字は消失している。

3、10%砂糖添加の蒸しドウは無添加の蒸しドウと比べ蛍光の状態はあまり差異がみられ

図版 4	Fig. 19	10%砂糖添加	40分蒸し	中央部	蛍光顕微鏡像×100
	Fig. 20	"	"	外側部	" ×100
	Fig. 21	30%砂糖添加	"	中央部	" ×100
	Fig. 22	"	"	外側部	" ×100
	Fig. 23	無 添 加	20分蒸し	中央部	" ×100
	Fig. 24	小 麦 粒	(生)	縦断面	偏光顕微鏡像×100

図版 5



ないが、30%砂糖添加の蒸しドゥは蛍光がはっきり現れている。しかし、小麦粒や生ドゥにみられる鮮明さとは異なり、無添加で短時間(20分)蒸したドゥとよく似た蛍光度である。

スタンダード光学顕微鏡観察では砂糖添加の蒸しドゥは無添加に比してデンプン粒の膨潤が悪く、なかにリング状のデンプン粒が観察された。砂糖添加によるデンプン粒内部の脱水現象とデンプン粒の内部構造に関係することは明らかである。

偏光顕微鏡による観察では砂糖30%添加40分蒸しのドゥは無添加20分蒸しドゥと同様に偏光十字が残っている。

以上の形態学的観察の結果、小麦粒、デンプン粒、生ドゥともに一次蛍光を持っており、加熱により蛍光度は弱まり、不鮮明になってくる。糊化の程度が進むにつれて蛍光が消失することが明らかになった。現時点ではこうした蛍光度の違いはデンプン粒の加熱による構造の変化により発現するとは説明出来ないが、蛍光顕微鏡による観察は形態学的面からデンプンの糊化の程度、添加物による糊化度への影響等を検索する方法として適当であると云えよう。

終りに本実験に終始御懇切な御指導を下さいました京都女子大学教授 川上いつゑ先生に深く感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 奥田弘枝：広島女学院大学論集、通巻21集 (1971)
- 2) 奥田弘枝：広島女学院大学論集、通巻22集 (1972)
- 3) 二国二郎, R. L. Whistler: J. Biochemistry (Japan), **44**, 227 (1957)
- 4) 田村咲江：広島大学教育学部紀要、第4部、**20** (1971)
- 5) Baxter E. J. and E. E. Hester: Cereal Chemistry, **35**, 336 (1958)
- 6) 下田吉人、松元文子、元山正、福場博保：新調理科学講座 **5**、**2** (1972)
- 7) 二国二郎：デンプンハンドブック、187 (1961)

図版	5	Fig. 25	小麦粉 (生)	胚乳部	偏光顕微鏡像×100
		Fig. 26	生ドゥ	〃	×100
		Fig. 27	無添加 40分蒸し	中央部	〃 ×100
		Fig. 28	〃 〃	外側部	〃 ×100
		Fig. 29	無添加 20分蒸し	中央部	〃 ×100
		Fig. 30	30%砂糖添加 40分蒸し	〃	〃 ×100